

ISSN 2436-7362

JOURNAL
OF
GERMFREE LIFE
AND
GNOTOBIOLOGY

無菌生物



Vol. 54

No. 1

2024

無 菌 生 物

J. germfree life gnotobiol.

日本無菌生物ノートバイオロジー学会

JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

無菌生物

Vol. 54, No. 1 Sept. 1 2024

編集委員会

神谷 茂
白川 仁
大崎 敬子

印刷所
事務所

共立印刷株式会社
日本無菌生物ノートバイオロジー学会
〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12
公益財団法人実中研 動物資源技術センター内
小倉 智幸 (おぐら ともゆき)

TEL (044)201-8520

FAX (044)201-8521

発行所

杏林大学医学部感染症学講座
大崎 敬子 (おおさき たかこ)

JOURNAL OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

Vol. 54, No. 1 Sept. 1 2024

Editorial and Publications Committee

SHIGERU KAMIYA MD PhD

HITOSHI SHIRAKAWA PhD

TAKAKO OSAKI PhD

Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology

c/o Tomoyuki Ogura

Central Institute for Experimental Medicine and Life Science
3-25-12 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki, 210-0821 Japan

TEL +81-44-201-8520

FAX +81-44-201-8521

E-mail jagg@ciea.or.jp

Department of Infectious Diseases
Kyorin University School of Medicine
Dr Takako Osaki

第57回 日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会

The Fifty-seventh Annual Meeting of
The Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology

January 19-20, 2024

Tokyo

President *Motomichi Takahashi*

会 長 高 橋 志 達

会 期 2024年（令和6年）1月19日（金）・20日（土）

会 場 東京都北区王子 北とぴあ

第57回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会開催報告

第57回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会
会長 高橋 志達（ミヤリサン製薬株式会社）

令和6年1月19日、20日の2日間、東京都北区王子の北とぴあにて第57回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会を開催いたしました。今回の総会は、新型コロナウイルス感染症が第5類とされたことを受け、オンラインのみの開催とさせていただきますが、当日は一般、学生及び招待演者の先生方を合わせて100名を超えるご参加をいただき、大変盛況な総会となりましたことをお礼申し上げます。

本総会では理事長の杏林大学名誉教授神谷 茂先生に「ノートバイオロジーと感染症研究」と題して無菌生物ノートバイオロジーの感染症研究への応用の歴史や先生のこれまでのご研究を総括いただきました。また、ミシガン大学消化器内科の鎌田信彦先生には特別講演として「炎症性腸疾患病態における腸内細菌の役割」をご講演いただきました。先生方の学際的なご講演が参加された先生方の今後のご研究の刺激になればと願っております。教育講演では、東海大学血液腫瘍内科鬼塚真仁先生には細菌叢と移植との関連性を中心とした臨床医学的な内容を、実験動物中央研究所小倉智幸先生には最新の無菌生物を用いた研究手技のご紹介をそれぞれの目的としてご講演いただきました。更に、「無菌生物を用いた宿主-微生物間の相互作用研究」と題したシンポジウムでは3名の先生方にご登壇いた

き、これまでの研究成果をもとにしたご専門分野のご講演をいただきました。

いずれの先生方のご講演も今後の学会員の研究活動の一助になるものと期待しております。本年の総会では、一般演題に10題の新しい研究成果をご発表いただきました。どのご発表内容もとても興味深く、将来の研究の発展を期待させる内容でありました。その中でも、日本大学生物資源科学部食品生命機能学研究室大西拓人先生の「無菌マウスを用いた真性ビオチン欠乏モデルにおける炎症反応とT細胞応答の解析」が厳正な審査の結果として、本年の佐々木正五賞に選出されました。

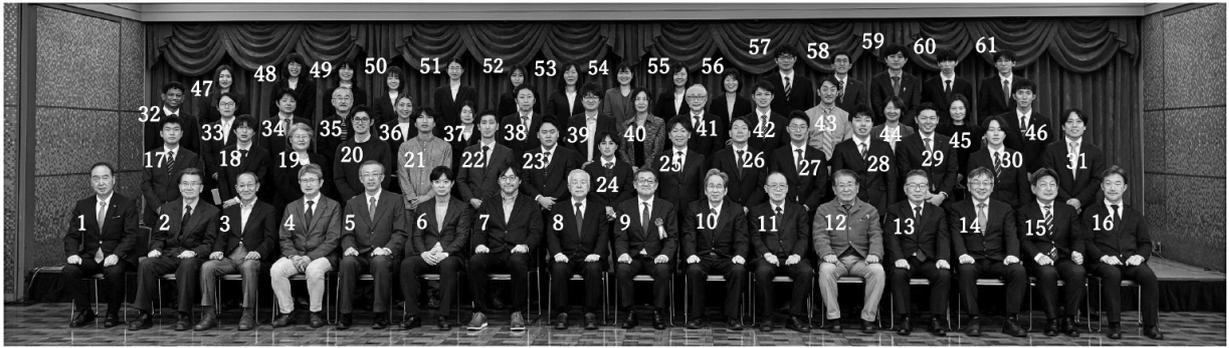
冒頭でも記しましたが、本年総会はコロナ禍からの復活を期しface to faceに重きを置いて開催させていただきました。その一環として、学術集会を離れた場での情報交換の機会として数年ぶりに懇親会も開催させていただきました。久しぶりの場となりましたが、会員相互の今後の連携につながればと願っております。

最後に、伝統ある本学会の総会を主宰させていただく機会をいただきましたことを神谷理事長はじめ理事、評議員の先生方に深謝申し上げます。また、総会の準備から開催に至るまで、学会事務局及び会員の先生方には多大なお力添えをいただきましたことにも重ねてお礼申し上げます。



第57回日本無菌生物ノートバイオロジー学会 会長 高橋 志達
2024年1月19日 東京 北とびあ

第 57 回 日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会 集合写真名簿 (敬称略)



- | | | | |
|------------|-----------|-------------------|------------|
| 1. 鶴野 浩司 | 16. 小倉 智幸 | 31. 岡 健太郎 | 46. 扇 隆介 |
| 2. 安藤 潔 | 17. 田口 遥規 | 32. 南田 バッドゲラクシュマン | 47. 村山 望 |
| 3. 伊藤 守 | 18. 福田 和生 | 33. 吉田 知加 | 48. 丹羽 みずほ |
| 4. 鬼塚 真仁 | 19. 野津 量子 | 34. 何 裕遙 | 49. 小林 典子 |
| 5. 平山 和宏 | 20. 今井 仁 | 35. 高橋 利一 | 50. 中村 萌香 |
| 6. 金 倫基 | 21. 岡原 則夫 | 36. 石井 さなえ | 51. 峯村 采花 |
| 7. 鎌田 信彦 | 22. 津田 真人 | 37. 小牧 すずほ | 52. 東 澤那 |
| 8. 加藤 俊一 | 23. 大西 拓人 | 38. 藏田 訓 | 53. 大原 佑季子 |
| 9. 高橋 志達 | 24. 岡田 開 | 39. 米澤 英雄 | 54. 松本 麻未 |
| 10. 神谷 茂 | 25. 林 篤史 | 40. 大坪 和香子 | 55. 野瀬 真理枝 |
| 11. 駒井 三千夫 | 26. 工藤 逸美 | 41. 大島 利夫 | 56. 出野 万里絵 |
| 12. 辨野 義己 | 27. 高野 知憲 | 42. 吉川 智貴 | 57. 鈴木 祐輝 |
| 13. 田口 晴彦 | 28. 早川 陽平 | 43. 堀越 円 | 58. 田中 純夢 |
| 14. 白川 仁 | 29. 堀内 大杜 | 44. 田中 まさ子 | 59. 北原 秀悟 |
| 15. 細野 朗 | 30. 山田 裕貴 | 45. 富沢 冬喜子 | 60. 小林 優矢 |
| | | | 61. 東 聖也 |

第57回日本無菌生物ノートバイオロジー学会プログラム

理 事 長 講 演

座長 高 橋 志 達
(ミヤリサン製薬株式会社)

ノートバイオロジーと感染症研究..... 8
神谷 茂
(杏林大学名誉教授)

特 別 講 演

座長 白 川 仁
(東北大学)

炎症性腸疾患病態における腸内細菌の役割..... 10
鎌田信彦
(ミシガン大学・大阪大学)

教 育 講 演 I

座長 安 藤 潔
(東海大学)

血液がん治療と細菌叢 12
鬼塚真仁
(東海大学血液腫瘍内科)

教 育 講 演 II

座長 藏 田 訓
(杏林大学)

無菌動物飼育における基盤整備と新たな実験系開発について..... 14
小倉智幸
(公益財団法人実中研)

シンポジウム

「無菌生物を用いた宿主-微生物間の相互作用研究」

座長 平山和宏

(東京大学/附属食の安全研究センター)

1. 無菌マウスを用いた *Mycoplasma pneumoniae* 感染モデルの開発 16
田口晴彦
(杏林大学保健学部免疫学研究室)
2. 疾患の予防と制御のためのマイクロバイームモジュレーター 18
金倫基
(慶應義塾大学薬学部・創薬研究センター)
3. 免疫系に注目した宿主と微生物間の相互作用についての無菌生物を用いた解析 20
細野朗
(日本大学生物資源科学部)

一般演題 セッション I

座長 林篤史

(ミヤリサン製薬株式会社)

1. 無菌ヒト肝キメラマウスの作製 00
野津量子, 富山香代, 高橋利一
(公益財団法人実中研)
2. 授乳期の慢性鼻腔炎症に誘導される腸内細菌叢の一過性及び長期的変動 00
小牧すずほ*, 大崎敬子**, 石井さなえ***
(*杏林大学大学院保健学研究科, **杏林大学医学部感染症学, ***杏林大学保健学部臨床検査技術学科)
3. *C. albicans* の増殖, 菌糸形成, バイオフィームおよび上皮細胞接着に対するヒト腔由来乳酸菌の阻害効果 00
高野知憲*, 工藤逸美**, 松本麻未**, 岡健太郎**, 高橋志達**, 國島広之*
(*聖マリアンナ医科大学感染症学講座, **ミヤリサン製薬株式会社研究開発本部研究部)
4. ビオチン摂取が認知機能関連物質の産生に与える影響の解析 00
吉川智貴, Afifah Z. Agista, 大崎雄介, 駒井三千夫, 白川仁
(東北大学大学院農学研究科栄養学分野)
5. 無菌マウスを用いた真性ビオチン欠乏モデルにおける炎症反応と T 細胞応答の解析 00
大西拓人*, 津田真人*, 岡田開*, 大崎雄介**, 白川仁**, 駒井三千夫**, 細野朗*
(*日本大学生物資源科学部食品生命機能学研究室, **東北大学大学院農学研究科栄養学分野)

一般演題 セッションII

座長 米澤英雄
(東京歯科大学)

6. CBM588による抗腫瘍免疫応答の誘導と機序の解明…………… 00
北原秀悟, 丹羽みずほ, 山田裕貴, 工藤逸美, 林 篤史, 高橋志達
(ミヤリサン製薬株式会社研究開発本部)
7. ペプチド資化性を有するブタ小腸内細菌の単離と同定…………… 00
早川陽平, 大坪和香子
(東北大学大学院農学研究科動物食品機能学分野)
8. MPS マウスを用いたヘリコバクターピロリ感染に関連する消化管内常在細菌叢の解析 …………… 00
北条 史*, 米澤英雄**, 岡 健太郎***, 高橋志達***, 藏田 訓****, 神谷 茂***,
三戸部治郎*****, 大崎敬子***** (*杏林大学大学院医学研究科共同研究施設部門実験動物施設部門,
東京歯科大学歯学部微生物学講座, *ミヤリサン製薬株式会社中央研究所,
****杏林大学保健学部臨床検査技術学科微生物学部門, *****杏林大学医学部感染症学教室)
9. 無菌コモンマーモセットの繁殖の検討…………… 00
岡原則夫, 植野昌未, 井上貴史
(公益財団法人実中研)
10. 繁殖母豚への酪酸菌飼料添加物が, 子豚の離乳後の腸内環境に与える影響評価…………… 00
工藤逸美*, 森合修也**, 扇 隆介*, 小野田 尚**, 篠原良太**, 高橋志達*
(*ミヤリサン製薬株式会社研究開発本部研究部, **フィード・ワン株式会社 研究所)

ノートバイオロジーと感染症研究

神谷 茂

(杏林大学名誉教授)

「無菌生物 germfree life」は常在細菌叢をもたない無菌の生物, 「ノートバイオート gnotobiotite」とは無菌生物に既知の微生物を感染した生物と定義される. 無菌生物及びノートバイオートをを用いた研究学問領域をノートバイオロジー Gnotobiology とよび, 微生物学, 感染症学, 病理学, 栄養学, 臨床医学, 獣医学, 薬学など多彩な領域において研究が行われてきた.

我々はこれまでヘリコバクター・ピロリ *Helicobacter pylori*, 腸管出血性大腸菌 *enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC), デイフィシル菌 *Clostridioides difficile* などの消化管病原細菌の病態解析を目的に無菌マウスを使用してきた. 本講演ではこれらの知見を紹介するとともに, これまでの論文報告をもとに無菌マウスの感染症研究への応用についても考察する.

H. pylori の無菌マウスへの感染は胃炎を惹起することが示され, 抗菌薬やプロバイオティクスの本菌への効果を評価するモデルとして活用されることを示した. また胃上皮内腫瘍 (gastric intraepithelial neoplasma:GIN) を高率に発症する INS-GAS マウスが無菌化され, 既知の腸内細菌 (*Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bacteriodes*) と *H. pylori* との重複感染の効果が評価され, GIN の発症には

H. pylori 以外の胃内細菌が関与している可能性が明らかにされた.

無菌マウスを用いて EHEC O157:H7 の感染病態を評価するとともに, プロバイオティクスである *Clostridium butyricum* MIYAIRI588 株が EHEC に対する抑制効果を有することを明らかにした.

C. difficile は抗菌薬関連下痢症 (antibiotic-associated diarrhea:AAD) および偽膜性大腸炎 (pseudomembranous colitis:PMC) の原因菌である. 我々は本菌有毒株が無菌マウスに致死性腸炎を引き起こすが, 普通マウスには何ら病原性を示さないことを明らかにした. 更に無菌マウスを用いて *C. butyricum* MIYAIRI588 株が致死性腸炎を防御することを示した.

近年, 腸内細菌叢と感染症, 消化器疾患, 代謝性疾患, 精神神経疾患, 腎疾患, 産婦人科疾患など極めて広範な疾病との関連性が報告されている. 疾患のみならず健康の維持・増進にも腸内細菌叢が関与している可能性がある. これらの領域におけるゲノム解析に基づく研究成果は無菌動物を用いたノートバイオロジーにて検証されることとなり, 更なる本領域の研究の進展が期待される.

Gnotobiology and researches for infectious diseases

SHIGERU KAMIYA

Professor Emeritus, Department of Infectious Diseases, Kyorin University School of Medicine, Tokyo

Germfree life is defined as life without indigenous microbiota, and gnotobiotite is a germfree life infected with known microorganism. The study using gnotobiotite is called as Gnotobiology, and it has been developed in many fields of microbiology, infection study, pathology, nutritional science, clinical medicine, veterinary medicine and pharmacy.

We have performed animal experiments using germfree (GF) mice to clarify the pathogenesis of human gastrointestinal pathogens including *Helicobacter pylori*, enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7 and *Clostridioides difficile*. In this lecture, our research data concerning applications of GF mice in the analysis of pathogenesis of gastrointestinal pathogenic bacteria will be introduced. In addition, previous reports concerning the application of GF mice to infection researches will be discussed.

Infection of GF mice with *H. pylori* induced acute/chronic gastritis, and the infection model will be used for evaluation of antibiotics and probiotics against *H. pylori*. In addition, the use of GF mice for evaluation of gastric intraepithelial neoplasia (GIN) in INS-GAS GF mice infected with *H. pylori* and intestinal microbiota will be introduced.

Using GF mice, we clarified the pathogenesis by infection with EHEC O157:H7, and showed that probiotics of *Clostridium butyricum* M588 (CBM588) strain had inhibitory effects on EHEC.

C. difficile is a causative agent for antibiotic-associated diarrhea (AAD) and pseudomembranous colitis (PMC). We showed that toxigenic *C. difficile* strains induced lethal enterocolitis in GF mice, but not in SPF mice. In addition, we showed that the probiotic strain of CBM588 protected the lethal enterocolitis of the gnotobiotite mice infected with toxigenic *C. difficile*.

Recently, associations of gut microbiota with many diseases including infectious diseases, gastrointestinal diseases, metabolic diseases, psychiatric diseases, renal diseases and gynecological diseases have been reported. Research data based on metagenomic analyses will be clarified by use of GF animals, which will make a great advance in the field of gnotobiology.

炎症性腸疾患病態における腸内細菌の役割

鎌田 信彦^{*. **}

(^{*}ミシガン大学医学部 消化器内科, ^{**}大阪大学 免疫学フロンティア研究センター)

ヒトの体内・体表には細菌をはじめとする無数の微生物が定着しており、宿主との巧妙な共生関係を構築している。消化管内の常在細菌（腸内細菌）は宿主の消化管における栄養素の代謝・吸収に必須であることは良く知られていたが、近年の研究により、腸内細菌は宿主の免疫系発達や外来性感染生微生物の定着阻止などに重要な役割を果たしている事が明らかとなって来た。一方で、炎症性腸疾患などの消化管疾患患者では腸内細菌叢が著しく乱れていることが報告されており、腸内細菌叢の攪乱と病態の関連が強く示唆されている。また、腸内細菌の乱れは消化管疾患だけでなく、肥満やアレルギー、糖尿病、癌、神経性疾患など多様な疾患への関与が報告されており、健康な腸内細菌の維持が多くの疾患の予防になると考えられている。この為、腸内細菌叢の是正を目的とした『腸内細菌編集』技術が新しい疾病予防・治療法をして注目され、米国

などでは糞便移植や善玉菌のカクテル製剤などが臨床現場でも用いられ始めている。しかしながら、腸内細菌叢の乱れがどういった要因で惹起されるのか、乱れた腸内細菌叢は病気の原因なのか結果なのか、もし原因なのであれば、どのように乱れを是正することが出来るのかなど不明なことも多く、更なる研究が必要とされている。我々の研究室では、特に炎症性腸疾患における腸内細菌の乱れと病態への関与に注目している。我々は、無菌動物に患者由来糞便を定着させたノトバイオートをを用い、炎症性腸疾患患者における腸内細菌叢の乱れと消化管炎症や各種合併症（消化管感染、線維化、癌）の関連、疾患関連細菌の同定、炎症性腸疾患治療を目的とした腸内細菌編集技術の開発などの研究を行なっている。本講演では、炎症性腸疾患における炎症や合併症と腸内細菌叢の関わりについて、我々の研究室の最新の知見を紹介する。

Unlocking the Secrets of IBD: Exploring Gut Dysbiosis through Gnotobiotic Animal Models

NOBUHIKO KAMADA*·**

**Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, University of Michigan Medical School, Michigan*

*** Immunology Frontier Research Center, Osaka University, Osaka*

A myriad of microorganisms, including bacteria, colonize the human body and establish a mutualistic relationship with the host. The commensal microbiota is vital for host physiology via aiding nutritional metabolism, educating immune systems, and conferring colonization resistance against incoming pathogenic microorganisms. On the other hand, the gut microbiota is significantly perturbed (the condition referred to as gut dysbiosis) in various diseases, such as inflammatory bowel disease (IBD). Therefore, technologies reshaping healthy microbiota have been attracting attention as new disease prevention and treatment methods. For example, fecal microbiota transplantation (FMT) and cocktails of beneficial bacteria are used for the treatment of various diseases in clinical settings in the United States and other countries. However, it is still unclear [1] what factors cause gut dysbiosis, [2] whether gut dysbiosis is a cause or a consequence of disease, and [3] if it is a cause, how to correct the bacterial imbalance. In our laboratory, we are particularly interested in the role of gut microbiota in IBD. Using gnotobiotic animal models, we investigate the causal relationship between gut dysbiosis and intestinal inflammation and other IBD-associated complications (gastrointestinal infection, fibrosis, colorectal cancer). In addition, we are attempting t

血液がん治療と細菌叢

鬼塚 真仁

(東海大学血液腫瘍内科)

腸内細菌叢およびその代謝産物である短鎖脂肪酸は宿主の免疫応答を調整し、悪性腫瘍に対する治療効果に大きく影響することが数多くのエビデンスとして示されるようになった。同種造血幹細胞移植は血液悪性疾患を治癒に導く効果的な治療であるが、移植後同種免疫反応による合併症が治療成績の向上の妨げになっている。とくに、移植されたドナーからレシピエントへの過剰な免疫応答は移植片対宿主病として移植の成否を決定する重大な合併症である。移植片対宿主病と腸内細菌叢の関連は数多く報告されており、国内からも多くの研究報告がなされている。まず、同種造血幹細胞移植における腸内細菌叢の関わりについて最新の知見を報告する。

次に、当院では移植片対宿主病以外の移植後合併症

において、細菌叢の関わりについて解析してきた。移植前処置に用いる抗がん剤や放射線照射による口腔粘膜障害の発症程度に個人差があることから、口腔内細菌叢と移植後口腔粘膜障害の関係を評価した。口腔内細菌叢は粘膜障害の重症度により大きく変化し、粘膜障害が軽快するにつれて移植前の細菌叢パターンに戻る傾向を示した。さらに、粘膜障害を軽減させるために歯周病予防となる乳酸菌が配合されたオーラルタブレットの効果の評価した。この臨床試験の結果の他に、口腔内細菌叢と造血幹細胞移植についての知見を報告する。

最後に、同種移植に限らず、血液疾患における腸内細菌叢の関連について最新の知見を紹介し、今後取り組むべき課題について報告する。

Blood cancer treatment and bacterial flora

MAKOTO ONIZUKA

Tokai University Department of Hematology and Oncology, Isehara

There are many evidence that the gut microbiome and its metabolites, short-chain fatty acids, modulate the immune response of the host and have a significant impact on the therapeutic effect on malignancies. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an effective treatment that leads to a cure for hematologic malignancies, but complications from post-transplant allo-immune reactions hinder the improvement of treatment outcomes. An excessive immune response from the transplanted donor to the recipient is a serious complication that determines the success or failure of transplantation as a graft-versus-host disease. The association between graft-versus-host disease and gut microbiota has been reported extensively, and many studies have been reported from Japan. First, we report the latest findings on the involvement of gut microbiota in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Next, we have analyzed the involvement of microbiota in post-transplant complications other than graft-versus-host disease. Since there are individual differences in the degree of incidence of oral mucosal damage due to pre-conditioning treatment drugs and irradiation, the relationship between oral microbiota and post-transplant oral mucosal damage was evaluated. The oral microbiota changed significantly depending on the severity of the mucosal disorder and tended to return to the pre-transplant microbiota pattern as the mucosal damage relieved. In addition, we evaluated the effect of oral tablets containing lactic acid bacteria that prevent periodontal disease to reduce mucosal damage. We report new findings on oral microbiota and hematopoietic stem cell transplantation.

Finally, we will introduce the latest findings on the relationship between the intestinal microbiota in blood diseases as well as allogeneic transplantation, and report on issues that need to be addressed in the future.

無菌動物飼育における基盤整備と 新たな実験系開発について

小倉 智幸 何 裕遙 野津 量子 富山 香代 小島 圭介 高橋利一
(公益財団法人実中研)

当研究所は1967年に無菌動物飼育技術の確立に着手し、1971年には無菌マウスの頒布を開始して、1975年には大型ビニールアイソレータ（以下、VI）を用いた量産体制の整備をしてきた。これらの開発過程で確立した無菌動物飼育技術は、現在我が国における技術の根幹となっている。これらの開発経緯と成果は実中研の日置らが第52回本学会総会にて「日本の無菌動物の歴史～実験動物学の見地から～」と題して報告した（無菌生物 J. germfree life gnotobiol. Vol.49 No.1, 2019）。また、長年培ってきた VI 飼育技術の開発改良として、新規滅菌剤の比較検討試験や過酸化水素ガスを用いた新たな滅菌条件の検討とともに、無菌マウスシステムの生理性状データ（体重曲線、臓器重量、血液性状等）や、VI 内の微小環境データ（温湿度、換気回数、給水条件等）を収集し関連学会への報告を進めている。一方、技術支援としては、腸内細菌研究者が求める新規マウスシステムの無菌化、指定菌もしくはヒト糞便等の定着試験ならびに被験物質の投与実験等にも対応している。前段ではこれらの実例報告を行う。

後段では、近年にわかにマクロバイオーム研究が隆盛となり、既存の VI 飼育技術では対処が困難であった動物実験が、誰でも簡便に実施できることを主眼として改良に取り組んできたのでこれらの成果を紹介する。2015年より高気密性の個別換気ケージ（以下、IVC）

にて無菌マウス飼育の成功例が紹介されたが、我々はバイオバブルクリーンルームと IVC を組み合わせることで、コンベンショナル環境下でも無菌マウスの維持やマイクロバイオーム実験が可能となる統合型 in vivo 無菌実験システムを構築した（Ka Y, et al. 2020）。現在このシステムの実用例として、IVC に回転カゴが装着できるようにカスタマイズし、測定値を無線接続することで無菌マウスの自発運動量を連続的に測定することを可能としており（個別換気ケージによる無菌マウスの自発運動量測定法の検討、無菌生物 J. germfree life gnotobiol. Vol.52 No.2, 2022）、論文文化のためのデータ収集を継続するとともに、適応しうる行動評価の拡大を狙っている。更に、本システムにて無菌ヒト化マウスの作製が実用レベルに到達し、ヒト肝臓細胞を移入した無菌ヒト肝臓モデルの樹立が可能となっている。これらモデルに、患者糞便、あるいはヒトの免疫機能に寄与する腸内細菌を定着させることで、腸内細菌のヒト化を目指した研究を展開している。

本教育講演では従来の基盤整備から新たな実験系開発について話題提供することで、学会員の今後の無菌動物の実験応用の参考になることが予想され、得られる成果は我が国の腸内細菌研究の基盤となり、それらの研究を加速するとともに発展に貢献すると考えられる。

Development of infrastructure and new experimental systems for germ-free animal breeding

TOMOYUKI OGURA, YUYO KA, RYOKO NOZU, KAYO TOMIYAMA, KEISUKE KOJIMA and RIICHI TAKAHASHI

Central Institute for Experimental Medicine and Life Science, Kawasaki (CIEM)

In 1967, CIEM started to establish a Germfree animal breeding technique, and in 1971, we started to distribute Germfree mice. These technologies is now the basis of the technology in Japan, and their histories was reported by Dr. Hioki of CIEA at the 52nd Annual Meeting of the Society (J. Germfree Life Genotobiol. Vol. 49 No. 1, 2019).

As for the development and improvement of Vinyl isolator(VI) technology, we are conducting comparative studies of new sterilants and new sterilization method using hydrogen peroxide gas, as well as collecting data on physiological properties of Germfree mouse strains and microenvironment data in VI and reporting them to related academic societies. On the other hand, as for technical support, we are also responding to the needs of resercher for making Germfree mouse strains and human fecal colonization tests.

By combining the BioBubble Cleanroom and individual ventilation cage system(IVC), we have established new experimental system that enables the maintenance of Germfree mice and microbiome experiments even in a conventional environment (Ka Y, et al. 2020), and practical examples include the measurement of spontaneous locomotion in Germfree mice and the establishment of a Germfree human. The system is also capable of establishing a Germfree human liver model from which human liver cells can be transferred.

In this report, I will discuss the development of new experimental systems from the existing infrastructure, which will serve as a foundation for research on intestinal bacteria in Japan and contribute to the acceleration and development of such research.

無菌マウスを用いた *Mycoplasma pneumoniae* 感染モデルの開発

田口 晴彦* 藏田 訓** 高橋 志達*** 神谷 茂****,*****
(*杏林大学保健学部免疫学研究室, **杏林大学保健学部微生物学研究室,
ミヤリサン製薬株式会社中央研究所, *杏林大学医学部感染症学講座)

病原体の病原性や宿主免疫応答を解析する研究、また、治療薬やワクチンの有効性の検討には感染動物モデルの開発が必要となる。

マイコプラズマ肺炎は乾性咳嗽を愁訴とする原発性異型肺炎であり、組織学的・病理学的所見としては細気管支炎、また間質性肺炎を呈する。マイコプラズマ肺炎の発症メカニズムに関しては、*M. pneumoniae* の感染に伴う気道上皮細胞への直接的傷害と、感染後に引き起こる宿主免疫反応が基盤となる間接的発症要因が存在すると考えられている。そのため、病態解析に加え免疫学的発症メカニズムの解析ができる感染モデルの開発が求められる。我々は、無菌マウスに *M. pneumoniae* を経鼻感染させることで肺炎を誘導し、病理学的、細菌学的、および免疫学的解析を行った。

1. マイコプラズマ肺炎モデルの作成

無菌マウスに *M. pneumoniae* M129株を単回感染させただけでは肺炎を惹起することができなかった。しかし、1ヶ月の期間を置いて反復感染させたマウスでは、肺血管周囲および細気管支周囲に炎症細胞の浸潤を認め、肺炎が観察された。

2. マイコプラズマ肺炎モデルの免疫学的検討

肺炎が惹起されたマウスの肺内リンパ球は、CD4陽

性細胞、CD8陽性細胞、およびCD25陽性細胞の割合が上昇し、肺内リンパ球からの炎症性サイトカインの産生性亢進が認められた。

3. 抗菌薬の有用性の検討

無菌マウスに *M. pneumoniae* M129株を反復感染させた肺炎モデルに抗マイコプラズマ薬として汎用されるクラリスロマイシンを投与し、肺内菌数の変化を観察した結果、投与薬剤濃度に依存して肺内菌数が減少しクラリスロマイシンの有効性が確認された。さらに薬剤投与マウスについて、肺の組織・病理学的検討を行った結果、投与薬剤濃度に依存して炎症が軽減していることが観察された。

今回、無菌マウスに *M. pneumoniae* を反復感染させることで肺炎を誘導することができた。この肺炎モデルマウスでは肺内においてT細胞が活性化し、また炎症性サイトカインの産生性が亢進していたことから、本肺炎モデルはマイコプラズマ肺炎の発症メカニズムを免疫学的に解析できると考えられた。さらに、抗マイコプラズマ薬の有効性を細菌学的、病理学的に評価できたことから、その有用性が示された。

Establishment of mycoplasmal pneumonia model using germ-free mice

HARUHIKO TAGUCHI *, SATOSHI KURATA**, MOTOMICHI TAKAHASHI***
and SHIGERU KAMIYA**** *****

* *Department of Immunology, Kyorin University Faculty of Health Sciences, Tokyo*

** *Department of Microbiology, Kyorin University Faculty of Health Sciences, Tokyo*

*** *Central Research Institute, Miyarisan Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo*

**** *Department of Infectious Diseases, Kyorin University School of Medicine, Tokyo*

Mycoplasma pneumoniae caused by *Mycoplasma pneumoniae* is known as one of the respiratory infectious diseases common in children and young adults. Histopathologically, in *M. pneumoniae* infection, the bronchial and bronchiolar lumina are characteristically filled with polymorphonuclear leukocytes, and their walls have a mononuclear infiltration with plasma cells.

Several animal models have been developed to examine the pathogenesis of *M. pneumoniae* infection and the mechanism of the mycoplasmal pneumonia. Infection of the mouse with *M. pulmonis* was established, but *M. pulmonis* is not a pathogenic agent for humans. On the other hand, gnotobiotic animal offer a well-defined model to study the pathogenicity of bacteria because it is possible to study the interaction of the bacterium and its toxins with the host without the influence of any other bacteria. Therefore, we attempted to establish an animal model using germ-free mice for *M. pneumoniae* infection, and the histopathological, immunological and bacteriological studies were performed.

We have succeeded in establishing mycoplasmal pneumonia in gnotobiotic mice by repeated infection with *M. pneumoniae*.

疾患の予防と制御のためのマイクロバイオームモジュレータ

金 倫基

(慶應義塾大学薬学部・創薬研究センター)

腸内に生息する細菌集団（腸内細菌叢）は、我々の健康維持や疾患予防に重要な役割を果たしている。腸内細菌叢は、菌体成分や代謝物を介して宿主の免疫系・代謝系・神経系などに作用し、生理機能の向上に寄与している。ヒトの腸内には数百種類の腸内細菌が存在するが、各腸内細菌は異なる菌体成分・代謝能を有する。そのため、腸内細菌叢の構成変化は、腸内の菌体成分や代謝物の組成を変動させ、その結果、宿主生理機能にも影響を及ぼす。近年、食事や生活スタイルの変化、抗菌薬などの薬剤使用の増加により、腸内細菌叢の構成異常（ディスバイオーシス）のリスクが高くなっている。腸内ディスバイオーシスは、腸内の菌体成分や代謝物を含む腸内環境（マイクロバイオーム）を変化させることにより、多様な疾患の病態に影響を与えている可能性が示唆されている。しかし、腸内ディスバイオーシスと疾患との因果関係や、各腸内細菌の機能、さらには疾患と関連する機能因子の作用メカニズムなどについては、不明な点が多く残されている。

腸内環境変動因子（マイクロバイオームモジュレータ）は、腸内細菌叢の組成や代謝を変化させるもので、下部消化管まで到達する糖・タンパク質・脂質などの栄養素、抗菌剤などの薬剤、生菌、腸内細菌代謝物などが挙げられる。各マイクロバイオームモジュレータは異なる腸内環境変化を引き起こすため、結果として宿主に異なる影響を及ぼす。そのため、マイクロバイオームモジュレータは、腸内ディスバイオーシスを改善し、宿主の健康状態に応じた腸内環境を構築できる可能性を持つだけでなく、腸内細菌やその代謝物の新たな機能を発掘するためのツールとしても有用であるといえる。我々は、宿主の生理機能や疾患病態を変化させる多様なマイクロバイオームモジュレータを探索することにより、健康状態に応じた腸内環境の構築と、腸内細菌やその代謝物の新たな機能の同定を試みている。そこで本講演では、マイクロバイオームモジュレータを用いた宿主の生理機能変化や、それらに関わる腸内細菌や代謝物についての最近の知見を紹介する。

Gut microbiome modulators for disease prevention and control

YUN-GI KIM

Research Center for Drug Discovery, Faculty of Pharmacy, Keio University, Tokyo

The bacteria living in the intestine (gut microbiota) play important roles in maintaining health and preventing diseases. Gut microbiota act on the host immune, metabolic, and nervous system, etc. through their microbial components and metabolites, contributing to improving physiological functions. There are hundreds of different species of microbes in the human intestine, and each bacterium has different microbial components and metabolic abilities. Therefore, changes in the composition of the gut microbiota alter the bacterial components and metabolites in the intestine, which in turn affects host physiological functions. In recent years, changes in diet and lifestyle, as well as increased use of drugs such as antibiotics, have increased the risk of imbalances in the gut microbial composition (gut dysbiosis). Gut dysbiosis has been suggested to influence the pathology of various diseases by changing the gut environment which includes bacterial cell components and metabolites in the intestine (gut microbiome). However, many points remain unclear regarding the causal relationship between gut dysbiosis and diseases, the functions of each gut microbe, and the mechanisms of action of functional factors associated with diseases.

Gut microbiome modulators change the composition and metabolism of gut bacteria, which include nutrients such as sugars, proteins, and lipids that reach the lower gastrointestinal tract, drugs such as antibacterial agents, live bacteria, and gut bacterial metabolites. Each microbiome modulator induces different changes in the gut environment, thereby conferring different effects on the host. Therefore, microbiome modulators not only have the potential to improve gut dysbiosis and create an intestinal environment according to the health status of the host but also to discover new functions of gut bacteria and their metabolites. By exploring various microbiome modulators that change host physiological functions and disease pathology, we aim to construct gut environment according to health status and identify new functions of gut bacteria and their metabolites. In this lecture, I will introduce recent findings regarding changes in host physiological functions using microbiome modulators, and the relevant gut bacteria and their metabolites.

免疫系に注目した宿主と微生物間の相互作用についての無菌生物を用いた解析

細野 朗 津田 真人
(日本大学生物資源科学部)

腸内に共生する約40兆個の細菌は、宿主において完全に排除されることなく、生体における消化・吸収を介したエネルギー代謝、免疫系組織の発達を通して感染防御や過剰な免疫応答の調節、脳機能の調節、生活習慣病などの疾患との関わりなど、あらゆる生体応答に関与していることが注目されている。特に、腸内には生体最大の免疫組織でもある腸管免疫系が存在し、腸管関連リンパ組織（GALT）を構成する小腸部位のパイエル板、大腸部位の盲腸リンパ節、大腸リンパ節などが宿主の粘膜免疫応答のみならず全身免疫系に対しても大きな影響を与えている。ここで、小腸は摂取する食品成分の影響を受けやすいのに対し、大腸部位の免疫系応答は腸内環境因子である腸内細菌や腸内細菌の代謝産物による影響を受けていることが予想されるが、詳細は不明な点が多い。このように、腸内環境因子としての腸内細菌と宿主の免疫系との相互作用を効率的に解析する上で、無菌生物をその解析モデルとして用いることは有用な手法である。特に、腸管免疫系における代表的な免疫応答である免疫グロブリン A (IgA) 抗体産生やそのほかのアイソタイプにも注目し、

大腸部位の免疫応答が腸内細菌等によっていかなる制御を受けているのかをマウスをモデルとして腸内細菌環境を制御する実験系により紹介する。

GALT における抗体産生の誘導には各リンパ組織の胚中心において濾胞性ヘルパー T 細胞を介して抗体のクラススイッチが起こるが、パイエル板においては IgA の誘導が顕著にみられる特徴があるのに対し、盲腸リンパ節ではパイエル板に比べて、IgG2b を発現する B 細胞が優位に存在しており、この抗体産生が腸内細菌によって強く誘導されることが、無菌マウスを用いた検討によって明らかになった。このとき、大腸内環境因子を変化させうる食品成分の経口摂取によって大腸部位の腸内細菌叢を変化させたときにも盲腸リンパ節において濾胞性ヘルパー T 細胞の誘導や胚中心における B 細胞の活性化と共に IgA クラススイッチなどの免疫応答が顕著に誘導されること、さらに、盲腸リンパ節においては IgG2b へのクラススイッチが誘導される。このように、小腸部位と大腸部位は腸内環境因子が異なっており、免疫系細胞応答にも違いがみられる。

Interactions between host and microbiota focusing on the immune system : analysis by using germ-free and gnotobiotic animals

AKIRA HOSONO and MASATO TSUDA

Nihon University, College of Bioresource Sciences, Fujisawa

The human gut harbors 40 trillion commensal bacteria which play an important role in human health. The gut immune system contributes to the maintenance of intestinal homeostasis. The gut-associated lymphoid tissue (GALT) is a key inductive site for initiating antigen-specific immune responses against such luminal antigens. GALT is composed of Peyer's patches (PPs), which are located in the small intestine, and their counterparts in the cecum (cecal patches; CePs) and colon (colonic patches; CoPs), and solitary intestinal lymphoid tissue. The small intestine is easily affected by food components, whereas the immune response in the large intestine may be influenced by intestinal bacteria and their metabolites, but the details are still unknown. Experimental systems using germ-free and gnotobiotic animals are useful tools to uncover cellular and molecular machinery of the interaction between intestinal bacteria and the host immune system. Immunoglobulin A (IgA) is the most abundant antibody produced in the body, mostly secreted from the mucosal surfaces of the intestinal tract. PPs are key inductive sites that generate IgA⁺ B cells, mainly through germinal center responses. In contrast, the CePs have a predominance of IgG2b-expressing B cells compared with PPs, and this antibody production is strongly induced by intestinal bacteria, as revealed by the study using germ-free mice. Furthermore, it was found that the oral intake of food ingredients by conventional mice that can alter environmental factors in the large intestine also markedly induced immune responses such as IgA and IgG2b class switch in the CePs.

原稿執筆要綱

1. 一般演題の演者と共同発表者は本学会員とします。未入会の方は本学会事務所へ入会申込をしてください。無菌生物学・ノートバイオロジーに関する新しい知見を有する研究で、未発表のものに限ります。本誌への掲載の可否は編集委員会の審査を経て決定します。編集委員会は加除修正を行うことがあります。掲載論文等の著作権は、本学会に帰属し、当該論文の全部または一部を本学会が認めたネットワーク媒体、その他の媒体において、任意の言語で、掲載、出版（電子出版を含む）できるものとします。
2. 原著・総説については英文 Guideline for Authors B をご参照ください。

注1 電子データを下記アドレス宛にお送りください。

日本無菌生物ノートバイオロジー学会事務所

jagg@ciea.or.jp

注2 略語 (abbreviation) は初出のところに「略さない語」full term をお示しください。

例)

1. 演題 気管支喘息への肺炎マイコプラズマ感染の影響
2. 発表者 蔵田 訓 田口晴彦* 大崎敬子 花輪智子 米澤英雄 神谷 茂
3. 所属 (杏林大学医学部感染症学講座, *同保健学部免疫学)
4. 和文要旨 (400字)
肺炎マイコプラズマ感染は気管支喘息の増悪因子の……
5. キーワード (5項目)
気管支喘息, 肺炎マイコプラズマ, 無菌マウス, 動物モデル, ……
6. 和文抄録 (2000字)
 - I. 目的 (はじめに, 背景, ……)
Mycoplasma pneumoniae (*M. pneumoniae*) は学童から青年……
 - II. 材料 (対象)
実験動物として BALB/c マウス (雄, 5週齢) と IQI 系……
 - III. 方法
感作初日に *M. pneumoniae* M129株を超音波により……
 - IV. 結果
BALB/c マウスの血清中 OVA 特異的 IgE 濃度は……
 - V. 考察
M. pneumoniae 菌体抗原による感作は……
 - VI. 結論
M. pneumoniae ノートバイオート肺炎モデルの肺内サイトカインの検討より……
 - VII. 謝辞
7. 表, 図・写真 (5点以内) Table 1. Figure 1. ……とし, 本文中に入る場所を示してください。タイトル, 説明および表・図中の文字は英語にしてください。図・写真は, 中の文字をふくめ, そのままオフセット印刷できる原図にしてください。カラー印刷も可。
8. 英文演題 The effect of *Mycoplasma pneumoniae* infection on asthma model in mice
9. 英文発表者 (フルネーム, 大文字) SATOSHI KURATA, HARUHIKO TAGUCHI*, TAKAKO OSAKI, TOMOKO HANAWA, HIDEO YONEZAWA and SHIGERU KAMIYA
10. 英文所属 Department of Infectious Diseases, Kyorin University School of Medicine, Mitaka
*Department of Immunology, Faculty of Health Sciences, Kyorin University, Hachioji
11. 英文抄録 (250 words)
Mycoplasma pneumoniae infection is known as one of the factors deteriorating asthma.……
12. 英文キーワード (5項目)
Keywords: asthma, *Mycoplasma pneumoniae*, germfree mouse, animal model...

13. 引用文献 *References* は引用順に番号をつけ、本文の引用場所に右肩付けとする。書式はバンクーバー方式とする。著者（苗字と名前のイニシャルの文頭を大文字、6名以上の場合は *et al.*）、表題、雑誌・図書の名称と発行年、巻数：頁数（最初と最後）の順に記載する。
1. Taguchi H, Takahashi M, Osaki T, Komatsu A, Fujioka Y, Kamiya S. Experimental infection of germfree mice with hyper-toxigenic *Escherichia coli* O157: H7 strain 6. *J Med Microbiol* 2002, 51:336-43.
 2. Lindahl G, Heden L-O, Stenberg L. Streptococcal IgA receptors. In, *Molecular recognition in host-parasite interactions*, Edited by Korhonen TK, Makela PH, Hovi T. New York, Plenum Press 1992: pp.77-83.
 3. Sakagami T, Fukuda Y, Tamura K, Tanida N, Shimoyama T. Does *Helicobacter pylori* promote gastric carcinogenesis? *J. germfree life gnotobiol* 2001, 31:25-26. (in Japanese)
14. 連絡先 〒181-8611 東京都三鷹市…… 蔵田 訓
15. TEL (0422) 47-…… 内線……
16. FAX (0422) 44-……
17. E-mail kurata@……

3. 倫理指針：ヒトを対象とした研究は「ヘルシンキ宣言」(World Medical Assembly, 1964年, 2013年追加), 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針に従って行われ, 動物を用いた研究は「実験動物の飼養および保管ならびに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年環境省告示第88号)に従って行われ, 倫理委員会等で承認されたものでなければならない。

Guideline for Authors

A. Annual meeting proceedings

I. Proceeding manuscripts (oral presentations)

1. Authors and all co-authors must be members of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG). Papers submitted for review must convey new unpublished findings from studies in germfree research or gnotobiology. Manuscripts are accepted for publication following review by the Editorial and Publications Committee. Please prepare manuscripts according to the instructions below, with reference to the printing sample available through our website.
2. Manuscripts are accepted in both English and Japanese. However, in the case of Japanese papers, the information carried in the title page, abstract, and key words must also be duplicated in English. All titles and legends to tables, figures, and photos, as well as the reference list must be prepared in English regardless of whether the papers are prepared in English or Japanese.
The title page of the manuscript should carry manuscript title, name of authors and affiliations, postal address, zip code, phone, fax, and e-mail address of the corresponding author.
Begin the manuscript on page two, starting with abstract (within 250 words), five key words, and text (2000 words), in the order of: I) Objective (or Introduction), II) Materials (or Subjects), III) Methods, IV) Results, V) Discussion, VI) Conclusion, VII) Acknowledgments (if any), References, and a maximum of 5 figures, tables, or photos in total.
3. An electronic copy in MS-Word format, tables and figures may be incorporated into the Word file, submitted as separate Excel or PowerPoint files, or as jpg, pct, eps, or tif images adjusted to actual printing size. Tables and figures should each be numbered consecutively in Arabic numerals (Table 1, Figure 1), with a title for tables and descriptive legends for figures. The location of tables and figures in the text should be indicated in the margin of the typescript. Each table and figure should be printed on a separate sheet of paper. The manuscripts in the journal are generally printed in black and white. However, if the authors prefer color printing of figure (s) in the manuscript, additional page charge will be added.
4. Abbreviations must be preceded by the full term at first mention. Use standard units of measure such as: m, cm, mm, μm , nm, l, ml, μl , kg, g, mg, μg , ng, pg.
5. References should be cited in the text using superscript Arabic numbers, in order of appearance. In the reference list, the references should be numbered, followed by authors (capitalize the first letter of your last name and first name, up to 6 people, for more than that, write as *et al.*), title, the journal name (abbreviated according to Index Medicus, and year of publication), volume: page numbers (first and last).

Example:

1. Taguchi H, Takahashi M, Osaki T, Komatsu A, Fujioka Y, Kamiya S. Experimental infection of germ-free mice with hyper-toxigenic *Escherichia coli* O157: H7 strain 6. *J Med Microbiol* 2002, 51:336-43.
 2. Lindahl G, Heden L-O, Stenberg L. Streptococcal IgA receptors. In, *Molecular recognition in host-parasite interactions*, Edited by Korhonen TK, Makela PH, Hovi T. New York, Plenum Press 1922: pp.77-83.
 3. Sakagami T, Fukuda Y, Tamura K, Tanida N, Shimoyama T. Does *Helicobacter pylori* promote gastric carcinogenesis? *J. germfree life gnotobiol* 2001, 31:25-26. (in Japanese)
6. Manuscripts should be sent by E-mail to jagg@cica.or.jp.
 7. Copyright of manuscripts accepted for publication will become the property of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG).
 8. The JAGG retains the right to publish accepted manuscripts in part or full in any network or other media recognized by the Association, in any language (including electronic publishing).

B. Original articles and reviews

I. Original articles

1. Submission of manuscripts to this journal is limited to members of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG) or the International Association for Gnotobiology (IAG), based on material presented at the annual meeting of the JAGG or International Symposium for Gnotobiology.
2. Papers submitted as original articles must convey unpublished findings and conclusions of note from innovative studies capable of contributing to the development of germfree research or gnotobiology.
3. Acceptance of manuscripts for publication will be judged by the Editorial and Publications Committee and referees.
4. Original articles must be prepared in English throughout, in accordance with the instructions for proceeding manuscripts above, with the exception that there is no limitation in word count or number of tables, figures and photos.

II. Reviews

1. Reviews are accepted in either English or Japanese as invited papers as a rule, to be prepared in accordance with instructions for oral presentation manuscripts.

C. Ethical guidelines

Study protocol must have obtained approval by an appropriate institutional Ethics Committee. Studies on human subject must also conform to the provisions of the Declaration of Helsinki (as revised in Brazil 2013, Ethical Guidelines for Clinical Research 2015 Ministry of Health, Labour and Welfare Public Notice 415), and the Ethical Guidelines for Epidemiological Research. Animal studies must conform to the Standards for the Rearing, Housing, and Alleviation of Pain of Experimental Animals (2006 Ministry of the Environment Public Notice 88). Compliance with these guidelines must be stated within the text of original articles.

CONTENTS

REPORT ON THE FIFTY-SEVENTH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

<i>Motomichi Takahashi</i>	1
----------------------------------	---

PROGRAMS OF THE FIFTY-SEVENTH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

Gnotobiology and researches for infectious diseases <i>Shigeru Kamiya</i>	9
Unlocking the Secrets of IBD: Exploring Gut Dysbiosis through Gnotobiotic Animal Models <i>Nobuhiko Kamada</i>	11
Blood cancer treatment and bacterial flora <i>Makoto Onizuka</i>	13
Development of infrastructure and new experimental systems for germ-free animal breeding <i>Tomoyuki Ogura et al.</i>	15
Establishment of mycoplasmal pneumonia model using germ-free mice <i>Haruhiko Taguchi et al.</i>	17
Gut microbiome modulators for disease prevention and control <i>Yun-Gi Kim</i>	19
Interactions between host and microbiota focusing on the immune system : analysis by using germ-free and gnotobiotic animals <i>Akira Hosono et al.</i>	21

GUIDELINE FOR AUTHORS

Guideline for Authors	24
-----------------------------	----